

Platelet aggregation in whole blood

Citation for published version (APA):

Burgess-Wilson, M. E. (1996). *Platelet aggregation in whole blood*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.19961101mb>

Document status and date:

Published: 01/01/1996

DOI:

[10.26481/dis.19961101mb](https://doi.org/10.26481/dis.19961101mb)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

SUMMARY

Whole blood platelet aggregation (WBA) was evaluated using a platelet counting technique. The instrument used, the Ultra-Flo 100, counts single platelets in whole blood samples. Microscopic examination of the blood samples confirmed that the loss of single platelets in stirred whole blood was proportional to the degree of platelet aggregation. This method of measuring WBA had several advantages over optical aggregometry using platelet-rich plasma (PRP). The method allowed more rapid testing and used a smaller blood sample. The whole blood is closer to the natural milieu of circulating blood than PRP, having all the different cells present in the correct relative proportions. The method also yielded a quantifiable result, unlike optical aggregometry and impedance aggregometry where a subjective analysis of the aggregation 'trace' is often necessary. It was necessary to carefully define the experimental conditions used because different methods of measuring platelet aggregation could provide quite different results.

The WBA method detected platelet aggregation in response to agonists known to aggregate platelets (in PRP) using optical systems. However, the method proved to be a very sensitive detector of weak platelet aggregation. It could measure platelet aggregation that was undetectable to optical systems; in blood collected from patients with Glanzmann Thrombasthenia and in blood when platelet aggregation was stimulated by the addition of diamide. The WBA method detected the formation of very small platelet aggregates, in contrast to optical aggregometry which only detected the formation of large platelet aggregates. One of the most striking observations was the so called, 'spontaneous' platelet aggregation (SPA), where platelet aggregation is observed in response to stirring or the standing of blood. SPA occurred in every citrated and heparinised blood sample tested, but not in blood anticoagulated with EDTA; whereas when optical aggregometry was used it was uncommon to detect any SPA. In a study of normal individuals it was found that the extent of SPA increased with the subjects age, but was independent of several thrombotic risk markers including haematocrit and fibrinogen. It was proposed that SPA represents the sensitivity of the platelets to aggregate and that this measurement may be important in the detection of individuals with hyper-aggregable platelets who are at risk of developing thrombotic disease. The main cause of the SPA in stirred blood appears to be

adenosine diphosphate released from the red blood cells, and several experiments provided evidence that inhibitors of platelet function, notably aspirin, could reduce the extent of SPA.

WBA was investigated in several clinical conditions with pregnancy providing a most interesting observation. It was demonstrated that heparin could induce marked platelet aggregation in whole blood collected from pregnant subjects. It was further shown that a heat-stable, as yet undefined, plasma component could influence the extent of heparin-induced aggregation (HIA), and the WBA method could be used to quantify the extent of HIA. It was proposed that this method might have an application in the detection of some individuals likely to experience heparin-induced thrombocytopenia, a common and sometimes serious complication of heparin therapy.

It was concluded that the WBA method has its main use in detecting hyper-aggregable platelets, and that optical aggregometry was more suitable for the detection of hypo-aggregable platelet disorders. The WBA method has an important role in the research of thrombotic disease. However, although the method can be adapted to any particle counter that can detect platelet-sized particles, it is not used as extensively as Born (optical) aggregometry. The availability of instrumentation to measure optical platelet aggregation is probably the main reason. A fully automated version of the Ultra-Flo 100 would encourage greater use of this technique and the studies presented in this thesis indicate that there are many areas of platelet research where this whole blood aggregation method could be useful.

Dit proefschrift beschrijft de evaluatie van een techniek (plaatjesaggregatie in volbloed, PAV) om bloedplaatjesaggregatie te meten in niet gecentrifugeerd bloed, door middel van het meten van de afname van vrije, individuele plaatjes. De plaatjes werden geteld met behulp van een instrument, de Ultra Flow 100, dat werkt volgens het "Coulter Counter" principe. De afname van het aantal vrije plaatjes in volbloed correleerde goed met het verschijnen van plaatjesaggregaten in bloeduitstrijkjes. Deze methode heeft verscheidene voordelen boven de meer gebruikelijke optische aggregometrie in plaatjesrijk plasma (PRP): zij is sneller en er is een kleiner bloedmonster nodig. Bovendien benaderd volbloed het natuurlijk milieu beter dan PRP.

PAV geeft een kwantitatief resultaat, in tegenstelling tot de optische aggregometrie en het andere alternatief, de impedantiemeting in volbloed, die beiden semikwantitatief zijn en soms een subjectieve analyse van de verkregen curven vereisen.

Kwalitatief geeft PAV dezelfde resultaten als de optische methode; dezelfde agonisten induceren aggregatie etc. Ook na zorgvuldige optimalisatie en standaardisatie van de proefomstandigheden bleken de resultaten van PAV echter kwantitatief te verschillen van die verkregen met de optische methode. PAV blijkt een zeer gevoelige detector van een geringe plaatjesaggregatie. De zwakke aggregatie die voorkomt in het bloed van patiënten met Glanzmanns'thrombasthenie of die in normaal plasma kan worden geïnduceerd door diamide ontsnapt aan de optische aggregometrie omdat deze slechts grote plaatjesaggregaten aantoonst terwijl PAV ook de vorming van kleine aggregaten meet.

Een van de meest opvallende waarnemingen was de "spontane plaatjesaggregatie" (SPA) die zich ontwikkelt in bloed dat, al of niet geroerd, wordt bewaard. Dit verschijnsel ontsnapt meestal aan de waarneming met de optische methode. SPA wordt gevonden in citraat- zowel als in heparineplasma maar niet in EDTA plasma. De belangrijkste oorzaak van het verschijnsel is het vrijkomen van adenosine difasfaat uit de rode bloedcellen. De studie van dit verschijnsel in een normale populatie liet zien dat SPA toeneemt met de leeftijd maar niet correleert met indicatoren van thrombose risico zoals hematokriet en fibrinogeengehalte. De resultaten suggereren dat SPA een indicator is voor de aggregatieneiging van plaatjes en dat de meting ervan van belang kan zijn voor het opsporen van individuen die door een verhoogde aggregaerbaarheid van de bloedplaatjes een verhoogd risico lopen op thromboembolische aandoeningen. Remmers van de plaatjesfunctie zoals aspirine kunnen de mate van SPA verminderen.

Wij bepaalden de PAV in een aantal verschillende klinische condities. De waarnemingen bij zwangeren verdienen aparte vermelding. Wij konden laten zien dat heparine plaatjesaggregatie kan induceren in het bloed van zwangere vrouwen en dat dit verschijnsel afhankelijk is van een, vooralsnog niet nader gedefinieerde, hittestabiele plasmacomponent. Waarschijnlijk kan PAV gebruikt worden om patiënten op te sporen die een neiging hebben om een heparine-geïnduceerde thrombocytopenie te ontwikkelen.

Samenvattend kan gezegd worden dat PAV bij uitstek geschikt is voor de detectie van hyperaggregeerbare plaatjes terwijl optische aggregometrie afwijkingen detecteert die gepaard gaan met verminderde plaatjesaggregatie, die overigens ook aan PAV niet ontsnappen. PAV kan potentieel een belangrijke rol spelen bij het onderzoek naar thromboembolische ziekten. De techniek kan worden uitgevoerd in ieder laboratorium dat beschikt over een bloedcelteller die in staat is om deeltjes te onderscheiden met de grootte van individuele bloedplaatjes. Toch is de techniek veel minder ingeburgerd dan de optische aggregometrie volgens Born. De reden zou kunnen zijn dat voor deze laatste techniek specifieke apparatuur verkrijgbaar is. Het verdient daarom overweging zulke apparatuur ook voor de PAV techniek te ontwikkelen.